生澱粉質原料の酵素糖化 —アルコールと酒類製造への応用—

國崎伸一*, 松元信也*

Application of a Raw Starch Digestive Enzyme Preparation for
Alcoholic Fermentation with Noncooking

Shin-ichi KUNISAKI and Nobuya MATSUMOTO

Suntory Limited

(1-1-1, Wakayamadai, Mishima-gun, Osaka 618, Japan)

Alcoholic fermentation from grains with a noncooking system was successfully carried out on an industrial scale. It was found that an enzyme preparation from *Rhizopus* sp. was suitable for alcoholic fermentation with a noncooking system on an industrial scale. It was suggested that some enzymes, other than glucoamylase, (such as α -amylase and cellulase) were essential for alcoholic fermentation with noncooking.

I. 工業規模におけるアルコール醱酵技術 の変遷

1. 穀類を原料とするアルコール製造工程

穀類を原料とするアルコール製造工程は原料穀類の特性・製品品質などによって細部は異なるが、基本的には粉砕・蒸煮・糖化・醱酵の各ステップから成る仕込・醱酵工程, アルコール回収から目的とする品質の製品を得るまでの蒸留工程, さらに蒸留残液から有用物質を効率的に回収・商品化するいわゆる副産物処理工程の三大工程から構成されている。本報では、これらの工程のうち蒸煮・糖化・醱酵の工程に着目し、かつエネルギー効率の立場からみた工業規模におけるアルコール醱酵技術の変遷について概説することにする。

2. 回分式高温蒸煮法

穀類原料のうち、たとえばトウモロコシからアルコールを製造する際には、その糖化・醱酵に先立って 140~180°C という高温で醪を蒸煮することが工業規模において高収率でアルコールを得るのに必須とされていた¹⁻³⁾。高温で蒸煮すると澱粉の液化および糖化効率が高くなり

有害微生物の完全な殺菌と相まって醱酵成績は向上する。しかし一方では、高温高圧用の高価な設備が必要であり、また高濃度仕込の場合、澱粉の糊化に伴って醪粘度が急激でしかも顕著に上昇するために仕込がきわめて困難になるという欠点があることも指摘されていた。

Fig. 1 は工業規模でのマッシング・プログラムの一例を示している。すなわち、トウモロコシ粉砕物、仕込水、さらに加熱工程での醪粘度の急激な上昇を緩和するために麦芽を添加し、約 138°C まで加熱しその温度で 15~30 分間保持した後に冷却し、糖化・醱酵工程へと進んでいく。しかしながら、このような回分式蒸煮法では 1 バッチ当たり約 3 時間を要し、しかも醪を均一に蒸煮することが困難である、加えてエネルギー効率が悪いなどの欠点があり、これらが工業規模での穀類のアルコール醱酵における低生産性の主たる原因となっていた。

3. 連続式高温蒸煮法

Unger ら²⁾ はアルコール需要の増大という背景もあって、これらの欠点を改善すべく 1939 年に連続蒸煮法の開発研究に着手し 1944 年に連続高温蒸煮・瞬間糖化法ともいえる新しい技術の工業化に成功した。Fig. 2 はその連続高温蒸煮法のフロー・ダイアグラムを示したものである。すなわち、粉砕された原料は予備蒸煮機内で水と蒸

* サントリー株式会社研究センター (618 大阪府三島郡島本町若山台 1-1-1)

Fig. 1. Batch pressure cooking of corn and milo mashes.

Fig. 2. The outline of flow diagram of continuous cooking system.

留残液の混合された仕込水によってスラリー化され、蒸気を吹き込むことによって若干予熱された後に蒸煮管に送入され180°Cにて1～3分間保持された後フラッシュ・クーラーで所定の温度に冷却される。その際、蒸煮に要したエネルギーの一部が回収されるように設計されており、従来の回分式蒸煮装置と比較して熱経済的にも大幅に改善されている。約63°Cに冷却された後に別系統で調製された麦芽スラリーが注入され1～2分間糖化後さら

に冷却され醗酵工程に進んでいく。

この連続蒸煮法の工業規模での技術の確立は近年のアルコール醗酵工業の技術革新の中でも特筆されるものであり、これによって穀類を原料とするアルコール醗酵工業は一気に近代化され生産性も飛躍的に向上した。

4. 低温蒸煮法

穀類のアルコール醗酵技術は前述の連続蒸煮法の工業規模での確立をもって一応完成されたものとみなされて

Fig. 3. Flow diagram of alcohol production from grain by LTC* system.

LTC*: low temperature cooking.

Fig. 4. Flow diagram of the noncooking fermentation system for use on an industrial scale.

Capacities: mill, 6 tons/hr; mash tank, 5 kl; fermenter, 140 kl.

いた。ところが、1973年、次いで1978年に世界を襲った石油危機に端を発したエネルギー価格の高騰が製造コストに重大な影響を及ぼすに至った。したがって、高温蒸煮法のようないわゆるエネルギー多消費型高生産性システムから脱皮し、省エネルギー型高生産性のアルコール醸酵技術を工業化することが緊急の課題となった。

筆者ら⁴⁾は、このような状況の中で穀粒醗の流動学的・醗酵生理学的研究を、仕込醗酵条件との関連において検討した基礎的研究を応用して省エネルギー型高生産

性アルコール製造技術を工業規模で完成させることを意図した。

その結果、1974年に穀粒澱粉の糊化温度よりも低い温度で蒸煮した後に糖化・醗酵せしめる低温蒸煮醗酵法の工業化を実現した。Fig. 3はトウモロコシを主原料とし酵素剤として微生物起源の液化剤と糖化剤を用いる場合の加熱最高温度を80℃とするいわゆる低温蒸煮醗酵法の工業規模でのフロー・ダイアグラムの概略を示している。低温蒸煮法の場合は加熱による粘度の上昇を緩和するために蒸煮前に添加したいわゆる捨液化剤がほとんど熱失活せず蒸煮冷却の全工程で有効に作用することから、高温蒸煮法の場合と異なり冷却時に再びα-アミラーゼを添加する必要性は全くない。なお、80℃での蒸煮保持時間は高温蒸煮法の場合と同様に5分間としている。

5. 無蒸煮醗酵法

筆者らは、続いて1981年には低温蒸煮醗酵法の工業化技術を基礎にしてさらに大幅な省エネルギー化が期待される蒸煮工程を完全に省いたいわゆる無蒸煮アルコール醗酵法の工業化を達成した。ところで、澱粉を蒸煮せず生のままで糖化・醗酵せしめる無蒸煮醗酵法の研究は山崎、上田の報告をもって端緒とする^{5,6)}。

Fig. 4は筆者ら⁷⁾が開発した工業規模における無蒸煮アルコール醗酵法の工程の概略を示している。すなわち、トウモロコシは乾式粉碎機で粉碎され仕込水と重量比で1:2の割合で懸濁され同時に糖化酵素剤を添加して攪拌

Fig. 5. Changes of alcohol content, residual direct reducing sugar content, viable yeast population and bacterial number in the fermenter during mashing and fermentation with the noncooking system on an industrial scale.

Table 1. Analysis of the mash after fermentation by noncooking system on an industrial scale.

Volume	112.5 kl
pH	4.8
Total acidity	3.3 ml
Alcohol	14.5 v/v%
Residual total sugars	1.57% as glucose
Residual direct reducing sugars	0.18 w/v% as glucose
Viable yeast	6.5×10^7 cells/ml
Bacterial number	3.5×10^5 cells/ml
Fermentation efficiency	88.5%

しながらあらかじめ酒母を張り込んだ醗酵タンクに投入する。醗酵温度は26～32℃に調節して約96時間で醗酵を終了させ蒸留工程に移す。

Fig. 5 は工業規模における無蒸煮醗酵醪中のアルコール、残存直接還元糖、酵母数および細菌数の経時変化を示したものである。アルコールの生成経過を見てみると醗酵開始24時間で約8%，48時間後には12.9%が生成された。醪中の残存直接還元糖は仕込終了時点で約1.4%存在していたが、醗酵の進行とともに急激に減少し、24時間後には約0.2%というきわめて低い濃度となり、この水準で以後推移した。酵母数においては仕込終了時点ですでに最高の酵母数に達し、その後はほぼこの菌数を維持していた。細菌数の変化をみてみると仕込開始時では10³であったものが、その後醗酵の進行とともに24時

間後までは増加して10⁷のレベルまで達することが認められた。しかしそれ以降は細菌数は減少し醗酵終了時点では4×10⁵となった。

工業規模における無蒸煮醗酵法による醗酵終了醪の分析値を Table 1 に示す。pH は4.8、滴定酸度は3.3 mlであり、雑菌汚染現象の発現がなかったことを示している。生成アルコール濃度は14.5%(v/v)であり、醗酵歩合は88.5%を示した。従来法の醗酵歩合は87～88%であるから無蒸煮法の場合は良好な醗酵成績であるといえる。

以上述べたように穀類を原料とする無蒸煮アルコール醗酵法は工業規模でその技術が確立されたが、この方法の採用によって蒸煮エネルギーは皆無化され同時に仕込工程での冷却水も不要となった。

一方、高温蒸煮醗酵法、低温蒸煮醗酵法そして無蒸煮

Table 2. Comparison of fermentation results with various kinds of saccharifying enzyme preparations.

Enzyme preparation	Enzyme quantity*	Final			Fermentation efficiency
		pH	T. A.**	Alc.	
<i>Rhizopus</i> sp.	4.0	4.83	3.0 ml	14.3%	87.8%
<i>Aspergillus</i> sp.	4.2	4.78	3.2	12.5	76.7
<i>Bacillus</i> sp.	5.3	4.27	6.2	9.8	61.4
<i>Endomycopsis</i> sp.	3.9	4.25	5.7	8.6	51.4

* Units of saccharifying power assayed by the method of JIS K 7001 per one gram of maize.

** Total acidity.

醸酵法による醸酵終了醪を比較してみると、高温蒸煮醸酵法による醪は表面に油状のものが浮遊しており、しかも醪の色もやや焦茶色を呈していることが観察された。穀類の水懸濁液を高温下で処理するといわゆる加熱臭という独特の臭いが生成しアルコールの品質に悪影響を及ぼすことはよく知られているが、低温蒸煮法は蒸煮温度が極端に低いこと、無蒸煮醸酵の場合は蒸煮工程が全くないことなどから、これらの省エネルギー的醸酵法の採用によって芳香性に富んだマイルドな品質のアルコール、酒類を製造することが可能となった。

II. 無蒸煮醸酵法に用いる糖化酵素剤について

1. はじめに

無蒸煮醸酵法の工業化にとって最も重要な点の一つは穀粒中の生澱粉を経済的に通用するような効率で糖化しうる酵素剤があるか否かである。そこで各種微生物起源の糖化酵素剤を醸酵法によって検討した。Table 2にその検討結果の一例を示した。*Rhizopus* 属起源の酵素剤を使用した場合、醸酵終了醪の pH は 4.83、生成アルコール濃度は14.3%、醸酵歩合87.8%と最も良好な醸酵成績を示し、筆者らの無蒸煮醸酵系には *Rhizopus* 属起源の糖化酵素剤が最適であることを認めた。そこで、本酵素剤の特性などについて若干の検討を加えたので以下報告する。

2. 酵素組成

Rhizopus 起源の糖化酵素剤中には糖化活性以外にも液化力、プロテアーゼ、セルラーゼ、ペクチナーゼ等の諸酵素活性を同時に保有していることが認められた。

3. 糊化・生澱粉分解活性に及ぼす pH の影響

糖化酵素剤の糊化および生澱粉分解活性に及ぼす pH の影響について検討を加えたところ、糊化澱粉分解活性の至適 pH は 5.0 付近、生澱粉を基質とした際の至適 pH は 4.5 であった。

Fig. 6. Effect of pH on adsorption of amylase onto raw corn starch.

4. pH 安定性

糖化酵素剤の糊化・生澱粉分解活性の pH 安定性について検討したところ、両分解活性ともに pH 3.5～6.0 の安定領域を有していることが認められた。

5. 糖化酵素剤の糊化・生澱粉分解活性に及ぼす温度の影響

次に、糊化および生澱粉分解活性に対する温度の影響について検討を加えた。糊化澱粉分解活性の至適温度は 55℃ 付近、生澱粉を基質とした際の至適温度は 40℃ 付近であることが知られた。

6. 熱安定性

糊化・生澱粉分解活性の熱安定性について検討したところ、両分解活性ともに 20～45℃ の安定領域を有していることが認められた。

7. 生澱粉分解酵素の生トウモロコシ澱粉への吸着に及ぼす pH の影響

Fig. 6 は *Rhizopus* 属起源の糖化酵素剤中の生澱粉分解酵素の生トウモロコシ澱粉への吸着に及ぼす pH の影響について示しているが、同吸着能は pH 4.0 から 6.5 まではほぼ安定であり至適 pH は 4.5 付近であることが知られた。筆者らの無蒸煮醸酵における pH の挙動範囲は 4.5～6.0 付近であることから同醸酵において本

Fig. 7. Effect of ethanol concentration on raw starch digestibility of glucoamylase preparation from *Rhizopus* sp. in existence of substrate.

Fig. 8. Effect of ethanol concentration on raw starch digestibility of glucoamylase preparation from *Rhizopus* sp. in the absence of substrate.

糖化酵素剤は効果的に作用する可能性が示唆された。

8. 生澱粉分解活性に及ぼすエタノール濃度の影響

無蒸煮アルコール醗酵は糖化と醗酵が同時に進行する併行複式醗酵であるが、従来の高温蒸煮醗酵法の場合には当然のことながら加熱による粘度の上昇のために高濃度仕込が困難であるが、無蒸煮醗酵の場合には超高濃度仕込も可能であり醗中には高濃度のアルコールが生成されることとなる。そこで生澱粉分解活性に対するエタノール濃度の影響について検討を加えた。まず基質存在下における生澱粉分解活性に及ぼすエタノール濃度の影響について検討した結果を Fig. 7 に示した。反応系に存在するエタノール濃度が増すにつれて生澱粉分解活性はほぼ直線的に低下することが認められた。そこで、この活性の低下が酵素に起因するのか、基質である澱粉に起因するのかを確かめるためにまず最初に基質が存在しない条件下における生澱粉分解活性に及ぼすエタノール濃度の影響について検討を行った。すなわち各濃度のエタノールを含有する pH 4.5, 0.05 M の酢酸緩衝液中に糖化酵素剤を 30℃, 12 時間浸漬した後にエタノールを除去しエタノールが存在しない反応系でそれぞれの生澱粉分解活性について検討を行った。Fig. 8 はその結果を示しているが、浸漬したエタノール濃度が高くなるにつれて生澱粉分解活性はほぼ直線的に低下し、またその活性の低下の度合いは基質存在下と比較してきわめて大きいことが知られた。さて、*Rhizopus* 属起源の糖化酵素剤は種々の酵素を含有する複合酵素系であるが、この生澱粉分解活性の低下が糖化酵素剤中のグルコアミラーゼに起因しているかどうかを確かめるために本糖化酵素剤

中のグルコアミラーゼ画分についてエタノール濃度の影響を調べた。その結果、浸漬したエタノール濃度が高くなるにつれて同活性はほぼ直線的に低下し、しかもその活性の低下の度合いは粗酵素標品の場合とほとんど同程度であった。

次に基質である澱粉そのものに対するエタノール濃度の影響についても検討を加えた。すなわち澱粉試料を各濃度のエタノール溶液に振盪しながら 30℃, 24 時間浸漬し、次に吸引濾過によってエタノールを除き水洗を 3 回繰り返した後に風乾した。風乾サンプルを基質として糖化酵素剤を用いて生澱粉分解反応を行った。その結果、浸漬した際のエタノール濃度が高くなるにつれて相対活性が若干上昇する傾向が認められ、エタノール浸漬による生澱粉分解活性の低下は見られなかった。

無蒸煮アルコール醗酵の場合、仕込濃度の限界はきわめて高いものではあるが以上述べたようにあまり超高濃度で仕込むと醗中に生成されたエタノールによって糖化酵素剤の生澱粉分解活性が低下するために、糖化酵素剤の効率的利用という点などから仕込濃度はアルコールが 14~15% 生成するように設定するのが最適であると考えられた。

9. 糊化・生澱粉分解活性に及ぼすグルコース濃度の影響

反応系にグルコースが存在した場合の糖化酵素剤の糊化および生澱粉分解活性への影響について検討した結果を Fig. 9 に示した。まず、糊化澱粉分解活性においてはグルコース濃度が 2.0% を超えるとその活性は著しく低下した。一方生澱粉分解活性においては、この場合

Fig. 9. Effect of glucose concentration on gelatinized and raw starch digestibility of glucoamylase preparation from *Rhizopus* sp.

Fig. 10. DEAE-Sephadex A-50 column chromatogram of glucoamylase preparation from *Rhizopus* sp.

もグルコース濃度が2.0%を超えると活性が顕著に低下することが認められた。したがって生成した糖が酵素活性を阻害したり、無蒸煮醱酵液中に混在する細菌の栄養源となることなどを極力防止するために、使用する酵素量は酵母の醱酵速度と同調するように、すなわち生成されたグルコースが液中にほとんど存在しないように設定することとした。

10. 糖化酵素剤の分画

前述のとおり、*Rhizopus* 属起源の糖化酵素剤は種々の酵素より成る複合酵素系であるが、無蒸煮醱酵における効率的な酵素使用条件を見出すためにおおのこの酵素の醱酵成績への寄与度を明確にすべく予備的検討を行った。そのため、まず糖化酵素剤（以下、粗酵素標品という）の分画を行った。すなわち、粗酵素標品を0℃の脱イオン水に溶解せしめ0℃で2時間放置した。次に遠心分離を行い上澄部分を硫酸アンモニウムで塩析し、一夜5℃で放置した。その後、遠心分離を行い沈澱部分を脱塩し凍結乾燥を行った。この凍結乾燥標品をDEAE-セファデックス A-50 カラムクロマトグラフィーに供し、pH 5.5 の0.05 M から1.0 M のリン酸緩衝液の濃度勾配をかけ分画を行った。Fig. 10 はそのクロマトグラムを示したものであるが、生澱粉分解活性は大きく三つに分画され、それぞれF₁、F₂、F₃画分としそれ以降の画分をF₄とした。なお、生澱粉分解活性のメイン・ピークはF₁画分であったので、以下の実験においては主にこの画分を用いて検討した。

11. F₁ 画分の生澱粉分解特性と醱酵成績による評価

Fig. 11 は全粒トウモロコシ粉砕物を基質にした場合の粗酵素標品とF₁画分の生澱粉分解特性を比較したものである。すなわち、粗酵素標品とF₁画分の精製トウモロコシ澱粉を基質にした場合の生澱粉分解活性を同一にして40℃で反応せしめたものであるが、全粒粉砕物を基質としたこの場合は反応初期から粗酵素標品のほうがF₁画分より高い分解率を示し、最終的にも粗酵素標品は基質を100%分解したのに対しF₁画分は92%分解したにとどまった。

次いで粗酵素標品とF₁画分の全粒トウモロコシ粉砕物を用いた無蒸煮アルコール醱酵試験を行ったところ、粗酵素標品のほうがF₁画分よりも醱酵速度が速く、最終醱酵成績も良好であることが認められた。これらのことから全粒トウモロコシ粉砕物を用いた無蒸煮アルコール醱酵においては、部分精製した生澱粉分解活性画分のみを用いると良好な成績を得られないこと、言い換えるとグルコアミラーゼ以外の何らかの酵素の共同作用がな

Fig. 11. Comparison of raw ground corn digestion by glucoamylase preparation and F₁ fraction.

ければ無蒸煮醱酵は良好な醱酵成績を収めることができないものと考えられた。

12. F₁ 画分への各画分の添加効果

そこで、粗酵素標品に含まれる種々の酵素群の生澱粉分解反応および醱酵成績への影響について検討するために、Fig. 10 で示した DEAE-セファデックス A-50 カラムクロマトグラフィーによって分画されたF₂、F₃、F₄の画分をそれぞれF₁画分と併用して全粒トウモロコシ粉砕物および精製トウモロコシ澱粉を基質とした生澱粉分解反応を行った。Fig. 12 にはそれらのうちF₁画分への添加効果が最も顕著に認められたF₃画分の場合について示した。まず全粒トウモロコシ粉砕物を基質とした場合、120時間後の分解率はF₃画分単独で8.6%、F₁画分単独では71.0%、両画分を併用した場合には96時間で100%の分解率を示した。精製トウモロコシ澱粉を基質とした際の120時間後の分解率はF₃画分単独で9.3%、F₁画分単独では90.1%、両画分併用では72時間で100%の分解率を示した。このように、いずれの基質の場合もF₃画分のF₁画分への顕著な添加効果が認められた。

さらに、本実験において精製澱粉に比べて穀粒中の生澱粉の分解は困難であることも確認された。

次に、F₁画分へのF₃画分の添加効果を醱酵試験でみてみた。96時間後の炭酸ガス生成量をみると、F₃画分単独では7.5gであったのに対し、F₁画分単独では40.5g、F₁画分とF₃画分を併用した場合は、粗酵素標品の58.0gには若干劣ものの56.6gの炭酸ガスが生成した。このように、醱酵試験においてもF₁画分へのF₃

Fig. 12. Effect of F_3 fraction on digestion of raw ground corn and raw corn starch by F_1 fraction.

Table 3. Enzyme activities in F_3 , F_3 -a, F_3 -b and F_3 -c.

	F_3	F_3 -a	F_3 -b	F_3 -c
Gelatinized starch digestibility	282.2 U/g	715.0 U/g	72.5 U/g	5.8 U/g
Raw starch digestibility	107.2	385.2	26.1	0.8
α -Amylase	881.0	55.0	108.0	1285.0
Protease (acid)	885.2	58.2	630.1	81.0
(neutral)	208.5	35.2	411.7	66.5
(alkaline)	19.8	N. D	50.8	N. D
Cellulase	115.8	N. D	N. D	559.2

Fig. 13. Ultrogel AcA 34 column chromatogram of F_3 of glucoamylase preparation from *Rhizopus* sp.

画分の添加効果が認められた。Table 3には F_3 画分の酵素組成について検討を加えた結果を示しているが、糖化活性以外に、 α -アミラーゼ、プロテアーゼ、セルラーゼ活性を有していることが知られた。そこで、この F_3 画分をウルトロゲル AcA 34 カラムクロマトグラフィーに供しさらに分画することを試み、Fig. 13 に示したような F_3 -a, F_3 -b, F_3 -c の3画分を得た。Table 3はこれら3画分の酵素組成について検討した結果を示しているが、 F_3 -a 画分は主に糊化・生両澱粉分解活性を有する画分であり、 F_3 -b 画分は主にプロテアーゼ活性を含有すること、 F_3 -c 画分は α -アミラーゼ活性およびセルラーゼ活性を有していることなどが知られた。

これらの3画分 (F_3 -a, F_3 -b, F_3 -c 画分) の F_1 画分への添加効果を全粒トウモロコシ粉砕物を基質とした場合の生澱粉分解反応で調べたところ、 F_3 -c 画分のみ顕著な添加効果を認めた。すなわち Fig. 14 に示すように F_3 -c 画分単独では生澱粉はほとんど分解されず F_1

Fig. 14. Effect of F_{3-c} fraction on raw ground corn digestion by F₁ fraction.

画分単独では144時間で48.0%の分解率を示したのに対して、F₁画分とF_{3-c}画分を併用すると144時間で93.8%の分解率に達した。次にF_{3-c}画分を用いた無蒸煮醱酵試験を行ったところ、96時間後の炭酸ガス生成量をみると、F_{3-c}画分単独では6.3g、F₁画分単独では40.5gであったのに対して、F₁画分とF_{3-c}画分を併用した場合には粗酵素標品を用いた場合の58.0gよりは劣るものの54.1gの炭酸ガス生成が認められ、醱酵試験においてもF₁画分へのF_{3-c}画分の添加効果が認められた。もちろん、前述のようにF₁画分とF_{3-c}画分を併用してもまだ粗酵素標品を用いた場合の醱酵成績に到達していないことから、穀粒中の生澱粉を効率的に分解するためにはF_{3-c}画分に含有されている酵素以外の酵素も重要も役割を果たしていると考えられ、生澱粉分解機構の解明とともに各種酵素の穀粒生澱粉分解への寄与度を明らかにすることが無蒸煮アルコール醱酵における酵素の効率の利用を達成するうえで重要な課題であると考えられる。

文 献

- 1) W.H. STARK: *in* Industrial Fermentation, Vol. 1, L. A. UNDERKOFER and R. J. HICKEY, eds., Chemical Publishing Co., Inc., New York, p. 17 (1954).
- 2) E. D. UNGER, H. F. WILLKIE and H. C. BLANKMEYER: *Trans. Am. Inst. Chem. Eng.*, **40**, 421 (1944).
- 3) R. SMITH: *Food Can.*, **29**, 23 (1969).
- 4) H. YOSHIKUMI, N. MATSUMOTO and O. FUKUSHI:

U. S. Patent, 4092434 (1978).

- 5) I. YAMASAKI and S. UEDA: *Nippon Nôgeikagaku Kaishi*, **24**, 181 (1951).
- 6) I. YAMASAKI: *J. Ferment. Assoc. Jpn.*, **10**, 319 (1952).
- 7) N. MATSUMOTO, O. FUKUSHI, M. MIYANAGA, K. KAKIHARA, E. NAKAJIMA and H. YOSHIKUMI: *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1549 (1982).

【コメント】

九大農 上田

F_{3-c}画分のグルコアミラーゼへの添加効果が認められたようですが、オリジナルの糖化酵素剤の醱酵成績には及ばないことは酸性プロテアーゼ等の添加効果が考えられますので、ぜひ酸性プロテアーゼを添加した実験をやられたらよろしいかと思います。

【答】

早速、酸性プロテアーゼを添加して検討を加えたいと思います。ありがとうございました。

【質問】

大阪市大 山本

グルコアミラーゼの生澱粉分解活性はアルコール濃度が増すにつれて直線的に低下していましたが、糊化澱粉分解活性についてはどうなのでしょう。

【答】

ここではデータを省きましたが糊化澱粉分解活性についても同様の検討を行っておりまして、糊化澱粉分解活性もアルコール濃度が増加するにつれて直線的に低下しております。しかし、その低下の度合いは生澱粉分解活性の場合と比較して著しくありませんでした。両澱粉分解活性のアルコールに対する挙動が異なる理由については現在検討しているところです。